Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 1, Spring 2024, p. 235-250

Effect of Glycine Betaine on some Morphological Traits, Osmolyte Accumulations and Antioxidant System of Sports Grass under Salt Stress

M. Mohammadi[1]*, F. Khosravifar[2], N. Siahi[2]

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: me.mohamadi@ilam.ac.ir)

Received: 28-11-2023 Revised: 03-01-2024 Accepted: 09-01-2024 Available Online: 09-01-2024	**How to cite this article:** Mohammadi, M., Khosravifar, F., & Siahi, N. (2024). Effect of glycine betaine on some morphological traits, osmolyte accumulations and antioxidant system of sports grass under salt stress. *Journal of Horticultural Science*, *38*(1), 235-250. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.85599.1305

Introduction

Grasses are narrow-leaved plants that are used as cover plants in landscape. These plants are one of the basic and necessary components of the green cover of most gardens, parks and as the background color of landscape. In Iran, due to the high costs of planting and management of grass, high water requirements, climatic incompatibility and damage to water and soil salinity, it is recommended to remove from the green space in some cities, especially in areas with low water and water and soil saline. If it is possible to benefit from the role and influence of these plants by observing the technical points and choosing the best species for each area. Salinity stress is the second limiting factor for the growth of plants in the world after drought, which affects the efficiency and performance of plants. Increase in salinity causes a decrease in the water potential in the soil. In this condition, the plant spends most of its energy to maintain the water potential, cell mass, and water absorption to have minimal growth. The aim of this research is the effect of external application of glycine betaine on the accumulation of osmolality compounds and the antioxidant system of sports grass under salt stress.

Materials and Methods

This research was carried out in 2022 in pots in the research greenhouse of Ilam University as a factorial based on a completely random design with three replications. Experimental treatments included three salinity levels with sodium chloride salt (without salinity, 50 and 100 mM sodium chloride) and three levels of glycine betaine foliar spraying (0, 5 and 10 mM). Glycine betaine application was performed after mowing twice with a distance of 48h from each other, and then salinity with sodium chloride salts was applied. 4 weeks after application of salinity stress, some morphological and biochemical characteristics of plants were measured. The results were analysed using SAS software (v.9.2), and Tukey's test was used to compare the means at the 5% probability level.

Results and Discussion

The results showed that salinity stress decreased all the study morphological, physiological and biochemical parameters including plant height, shoot fresh and dry weight, number of tiller, leaf area, chlorophyll content, protein and total antioxidant capacity in the studied plants. It also increased peroxidase enzyme, H_2O_2 and proline in plants, but glycine betaine application significantly improved the morpho-physiological characteristics of plants compared to the control under salt stress conditions. Thus, the highest height, shoot fresh and dry weight, leaf area, number of tiller, chlorophyll content, and protein and antioxidant capacity were observed in plants sprayed with glycine betaine. Also, the highest content of glycine betaine and activity of catalase and peroxidase enzymes and the lowest content of glycine betaine and H_2O_2 were observed in in plants sprayed with glycine betaine and 10 mM

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.85599.1305

glycine betaine was more effective than 5 mM. The occurrence of salinity in plants disrupts the absorption of ions and causes the reduction of nutrients and increases sodium ions. One of the effects of salinity in plants is the reduction of photosynthetic activity, which results in the reduction of chlorophyll, carbon dioxide absorption, photosynthetic capacity, plant height, shoot fresh and dry weight, number of tiller and leaf area. One of the most strategies to deal with stress is accumulation of osmolyte and increasing the antioxidant activity, which makes plants resistant to environmental stresses. Salinity, through the toxic effect of Na^+ and Cl^- ions, affects the growth and performance of the plant by reducing the soil water potential, disrupting water absorption and imbalance of nutrients in the plant. The results obtained from comparing the average results of glycine betaine show that glycine betaine increased plant height, shoot fresh and dry weight, number of tiller, leaf area, chlorophyll content, total protein and antioxidant capacity, but on the other hand, it increased proline and H_2O_2 decreased, which is due to the accumulation of glycine betaine as a protector in plants under salt stress conditions. In stress conditions, glycine betaine can protect photosynthetic activities including photosynthetic enzymes, proteins and lipids in thylakoid membranes in the combination of photosystem II, and also the task of protecting cell membranes against osmotic stresses in the plant.

Conclusion

The results obtained from this research showed that salinity stress reduced all the morphological, physiological and biochemical characteristics in the sport grass plants, but glycine betaine application played a positive role in reducing salinity damage and maintaining plant quality. Glycine betaine is known as one of the effective molecules in stress signaling, so it can protect the plant cells against stress by reducing the destruction of the membrane and by increasing the salt tolerance mechanisms. Also, glycine betaine 10 mM is introduced as the best treatment to reduce salinity damage in sport grass during present study.

Keywords: Fresh weight, Plant height, Proline, Sport grass

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۱، بهار ۱٤۰۳، ص. ۲۵۰-۲۳۵

اثر گلایسین بتائین بر برخی صفات مورفولوژیک، تجمع ترکیبات اسمولیتی و سیستم آنتی‌اکسیدانی چمن اسپورت تحت تنش شوری

میثم محمدی[۱*] - فاطمه خسروی‌فر[۲] - نگین سیاهی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۹

چکیده

امروزه تنش شوری پس از خشکی به‌عنوان دومین تنش زیستی مهم، توسعه کشت گیاهان یا عملکرد آن‌ها را در بسیاری از مناطق جهان محدود کرده است. چمن اسپورت یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان در محل‌های چمن‌کاری شده مانند پارک‌ها، تفرجگاه‌ها، بلوارها و زمین‌های ورزشی در سرتاسر جهان است. از آنجایی‌که پژوهشگران همواره به‌دنبال راهکارهایی برای افزایش راندمان گیاهان و همچنین کاهش اثرات مخرب تنش هستند، در این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی گلایسین بتائین (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) در شرایط تنش شوری بر روی چمن اسپورت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری شاخص‌های کیفی و رشدی چمن اسپورت کاهش یافت ولی کاربرد گلایسین بتائین بخوبی باعث حفظ کیفیت ظاهری، افزایش ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک شاخساره، تعداد پنجه، سطح برگ، محتوای کلروفیل و پروتئین کل در گیاهان محلول‌پاشی شده نسبت به نمونه‌های شاهد شد. همچنین کاربرد گلایسین بتائین موجب افزایش محتوای گلایسین بتائین درونی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و پرولین آزاد در گیاهان محلول‌پاشی شده گردید. در این پژوهش اثر کاربرد گلایسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار بهتر از ۵ میلی‌مولار بود که احتمالاً تقویت پتانسیل اسمولیتی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان از مهمترین مکانیسم‌های آن در پژوهش حاضر باشد. بنابراین با توجه به نتایج حاضر کاربرد گلایسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار به‌عنوان برترین غلظت جهت حفظ شاخص‌های کیفی گیاهان و تعدیل اثرات مخرب تنش شوری در چمن اسپرت معرفی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع بوته، پرولین، چمن اسپورت، وزن تر

مقدمه

گسترش شهرنشینی و افزایش فاصله انسان‌ها از طبیعت باعث شده که بشر برای رفع نیازهای روحی و روانی خود به گذراندن حتی لحظه‌ای از زندگی خود در طبیعت اقدام کند. تفریحگاه‌های عمومی، پارک‌ها، زمین‌های گلف و زمین‌های ورزشی چمن‌کاری شده شاید تنها محیط‌های باقیمانده برای مرتفع ساختن این نیاز انسان شهرنشین باشد (Zadehbagheri & Salehi Salmi, 2016). از آنجایی که کاشت گل‌ها در بستر چمن‌کاری شده، شکوه و زیبایی آن‌ها را چند برابر می‌کند، چمن یکی از ارکان اساسی و ضروری پوشش سبز بیشتر باغ‌ها و پارک‌ها و به‌عنوان رنگ زمینه فضاهای سبز مطرح است.

در ایران به‌دلیل هزینه‌های زیاد کاشت و نگهداری چمن، نیاز آبی زیاد، عدم سازگاری اقلیمی و خسارت در مقابل آب و خاک شور، حذف چمن از فضای سبز در برخی از شهرها بویژه در مناطق کم آب و دارای آب و خاک شور توصیه می‌شود. در صورتی‌که می‌توان با رعایت نکات فنی، مدیریت صحیح و انتخاب گونه‌های مناسب برای هر ناحیه از نقش و تأثیرگذاری این گیاهان سود برد (Zadehbagheri & Salehi Salmi, 2016). چمن‌ها گیاهانی باریک برگ و از خانواده گیاهی Poaceae هستند که به‌عنوان گیاه پوششی در فضاهای سبز کاربرد گسترده‌ای دارند (Khandan-Mirkohi *et al*., 2016). چمن اسپورت ترکیبی از بذر چمن‌های مختلف با نسبت‌ها متفاوت جهت

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*-نویسنده مسئول: Email: me.mohamadi@ilam.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.85599.1305

استفاده در کاربری‌های متفاوت است که امروزه به‌دلیل سازگاری بهتر با محیط‌های کاشت که ناشی از ویژگی‌های متفاوت چمن‌های مورد استفاده در ترکیب آن‌ها است، این نوع چمن‌ها بیشتر مورد توجه هستند (Zadehbagheri & Salehi Salmi, 2016).

شوری به معنی افزایش برخی یون‌ها در خاک توسط افزایش غلظت برخی نمک‌ها در خاک است که برای گیاهان مضر است و باعث بروز خسارت در آن‌ها می‌شوند. تنش شوری بعد از خشکی دومین عامل زیستی فراگیر و محدودکننده رشد در سطح جهان است که کارایی و عملکرد گیاهان را به‌طور گسترده‌ای تحت تأثیر قرار می‌دهد (Joushan *et al*., 2020, Yazdani-Biouki *et al*., 2020). گیاهان در مواجهه با تنش شوری تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و پاسخ‌های بیوشیمیایی متفاوتی را از خود نشان می‌دهند که میزان تأثیرپذیری از تنش شوری بسته به گونه گیاهی، میزان تنش شوری و مدت زمان در معرض قرارگرفتن شوری متفاوت است (Amirjani, 2010). افزایش یون‌های سدیم (Na^+) به‌عنوان مهمترین منبع افزایش شوری آب یا خاک شناخته شده است، این افزایش غلظت سدیم خاک باعث کاهش پتانسیل آب در خاک می‌شود که در این شرایط گیاه بیشتر انرژی خود را برای حفظ پتانسیل آب، آماس سلولی و جذب آب صرف می‌کند که بتواند در این شرایط، رشد حداقلی را داشته باشد (Jing *et al*., 2007). در این راستا گیاه می‌بایست فعالیت اسمزی یا سنتز ترکیبات سازگار را افزایش دهد که می‌توان به سنتز کربوهیدرات‌های محلول و اسید آمینه‌ها یا ترکیبات آمونیومی مانند پرولین، گلایسین بتائین و اکوتین اشاره کرد. همچنین افزایش یون سدیم تعادل کاتیون‌های مهم خاک را برهم می‌زند و باعث کاهش جذب عناصری مانند کلسیم، منیزیم و پتاسیم توسط گیاه می‌شود (Eskandari *et al*., 2018). افزایش مقدار مواد محلول در سلول می‌تواند منجر به حفظ تورژسانس و فرآیندهای مرتبط با تورژسانس مانند باز و بسته شدن روزنه‌ها، رشد ساقه، فتوسنتز و توسعه ریشه‌ها در لایه‌های عمیق خاک در پتانسیل‌های پایین خاک شود (Ashraf & Harris, 2013). ازجمله مکانیسم‌هایی که در القای مقاومت به شوری در گیاهان می‌تواند مؤثر باشد می‌توان به عدم جذب یا جذب کمتر نمک به درون گیاه، تجمع نمک در واکوئل‌ها، مقاومت یا تحمل شوری با تغییرات مورفولوژیکی، فرآیندهای بیوشیمیایی مختلف نظیر تولید برخی آنزیم‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره کرد (Leopold, 1984).

گلایسین بتائین یک محلول آلی سازگار است که در میکروارگانیسم‌های مختلف، گیاهان عالی و حیوانات وجود داشته و از بین بسیاری از ترکیبات آمونیومی چهارظرفیتی شناخته شده، بیشترین و فراوان‌ترین ترکیب در پاسخ به تنش‌ها به شمار می‌آید (Yazdani-Biouki *et al*., 2020) در شرایط بروز تنش، گلایسین بتائین از منابع مهم نیتروژن درگیاه محسوب شده و موجب افزایش فعالیت فتوسنتزی از طریق افزایش تجمع کلروفیل، افزایش تسهیل انتقال الکترون، جذب دی‌اکسیدکربن، محافظت از سلول، فعالیت پروتئین‌ها و لیپیدهای غشا تیلاکوئیدی می‌شود. همچنین کاربرد خارجی گلایسین بتائین سبب افزایش رشد، بهبود وزن خشک و فعالیت‌های بیوشیمی بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت شرایط تنش خشکی شده است. این اسید آمینه می‌تواند موجب افزایش فشار اسمزی در سیتوپلاسم سلول، سبب پایداری ماکرومولکول‌ها در طی دهیدراسیون سلولی و همچنین باعث حفاظت غشاهای سلولی و کمپلکس‌های پروتئینی در شرایط بروز تنش شود (Joushan *et al*., 2020).

بررسی پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که محلول‌پاشی گلایسین بتائین در گل محمدی باعث افزایش ارتفاع گیاهان تحت تنش شوری گردید (Yazdani-Biouki & Beyrami, 2020). همچنین کاربرد گلایسین بتائین بر روی صفات کمی و کیفی گیاه نعناع (*Mentha spicata* L.) تحت تنش شوری، نشان داد که با افزایش سطح شوری ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی، حجم، وزن تر و خشک ریشه و همچنین پروتئین کل کاهش و محتوای پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول افزایش یافت و به‌طور کلی، کاربرد گلایسین بتائین به‌طور معنی‌داری اثرات منفی ناشی از تنش شوری را کاهش و کیفیت گیاهان را بهبود بخشید (Joushan *et al*., 2020). در پژوهشی دیگر با کاربرد گلایسین بتائین بر روی گیاه (*Suaeda fruticosa*) تحت تنش شوری، مشخص شد که تنش شوری سبب کاهش طول ساقه و ریشه، نسبت طول ریشه به ساقه، وزن خشک اندام هوایی، ریشه و حجم ریشه و همچنین افزایش قند محلول گیاه و مقدار پرولین گیاه گردید، ولی محلول‌پاشی با گلایسین بتائین سبب افزایش طول ساقه و ریشه، وزن خشک اندام هوایی و طول و حجم ریشه شد (Yazdani-Biouki *et al*., 2020). بنابراین باتوجه به اینکه تاکنون گزارشی در مورد اثر کاربرد گلایسین بتائین بر روی چمن اسپورت در شرایط تنش شوری وجود ندارد، در پژوهش حاضر اثر محلول‌پاشی گلایسین بتائین بر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی چمن اسپرت تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمارها و مواد آزمایشی

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ایلام طراحی و اجرا شد. در این پژوهش اثر سطوح مختلف گلایسین بتائین در مواجهه چمن اسپورت با تنش شوری مورد مطالعه قرار گرفت. برای این کار مقدار ۰/۱ گرم بذر چمن اسپورت Sport Gold Line (۲۵ درصد *Lolium perenne* var. Esquire، ۳۵ درصد *Lolium*

Festuca rubra var. ۳۰ درصد ،*perenne* var. Belida Maxima1 و ۱۰ درصد (*Poa pratensis* var. Evora تولید شده در کشور ایتالیا، در داخل گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر که حاوی خاکی یکنواخت با نسبت (۱:۱:۱) شامل خاک زراعی، ماسه بادی و کود دامی پوسیده بودند کاشت شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد گیاهان تا ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر برای یکنواخت شدن رشد یک‌بار تا ارتفاع ۵ سانتی‌متر سربرداری شدند و پس از شروع رشد مجدد، توسط غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین تا خیس شدن کامل بوته‌ها محلول‌پاشی شدند و ۴۸ ساعت بعد محلول‌پاشی مجدد تکرار شد. سه روز پس از آخرین محلول‌پاشی گلایسین بتائین، برای ایجاد تنش شوری گیاهان با آب حاوی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم و گیاهان بدون تنش نیز تنها با آب معمولی آبیاری شدند. برای جلوگیری از تجمع نمک در گلدان‌ها پس از هر دو بار آبیاری با آب شور یک‌بار با آب معمولی آبیاری انجام شد. همچنین برای گیاهان شاهد از آب معمولی استفاده شد. در طول دوره رشد گیاهان به‌طور متوسط هر سه روز یک‌بار با آب حاوی غلظت‌های مختلف نمک آبیاری انجام شد و ۴ هفته پس از اعمال تنش شوری گیاهان از نظر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی مورد مطالعه قرار گرفتند.

اندازه‌گیری ارتفاع، تعداد پنجه، وزن تر و خشک شاخساره

ارتفاع بوته توسط خط کش اندازه‌گیری شد. برای محاسبه تعداد پنجه از هر گلدان تعداد ۵ گیاه انتخاب و تعداد پنجه آن‌ها شمارش شد و به‌طور میانگین پنجه در بوته گزارش شد. وزن تر و خشک نیز توسط ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سطح برگ و شاخص کیفیت ظاهری چمن

سطح برگ گیاهان موجود در هر گلدان در هر تکرار توسط دستگاه سطح‌سنج دیجیتال اندازه‌گیری و گزارش شد. برای تعیین شاخص کیفیت ظاهری از درجه‌بندی چشمی و اختصاص نمره به هر گلدان توسط ۵ نفر آقا و خانم آموزش دیده استفاده شد. به این منظور برای هر گلدان براساس ارتفاع بوته، شادابی بوته‌ها و سرسبزی آن‌ها و بروز علائم تنش شامل سوختگی و ایجاد نقاط نکروزه در گیاه نمره‌ای بین ۱ تا ۵ در نظر گرفته شد. نمره ۵ بدون علائم تنش، نمره ۴ تنش کم (بین یک تا ۱۰ درصد خسارت)، نمره ۳ تنش متوسط (بین ۱۱ تا ۲۵ درصد خسارت)، نمره ۲ خسارت زیاد (بین ۲۵ تا ۵۰ درصد خسارت) و نمره ۵ برای تنش خیلی زیاد (بیشتر از ۵۰ درصد خسارت) در نظر گرفته شد. در رابطه ۱ به‌ترتیب SI درجه خسارت تنش شوری، nSI عدد تنش، NSI تعداد گلدان‌های دارای علائم تنش و NT تعداد کل گلدان‌های دارای علائم تنش را نشان می‌دهد (Promyou *et al.*, 2012).

$$SI = \sum \frac{(nSI \times NSI)}{NT} \quad (۱)$$

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید

میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ با استفاده از روش لیختنتالر (Lichtenthaler, 1987) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ توسط سه میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی سرد شده توسط نیتروژن مایع به خوبی پودر شد. سپس نمونه‌ها برای پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و سپس جذب عصاره رویی در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای بلانک دستگاه از استون ۸۰ درصد استفاده شد. برای محاسبه مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید از روابط زیر استفاده شده که مقادیر محاسبه شده بر حسب گرم بر کیلوگرم وزن‌تر برگ گزارش شد.

$$Chl\ a\ (mg/g\ FW) = (19.3A_{665.2} - 0.86A_{652.4}) \times V/100\ W \quad (۲)$$

$$Chl\ b\ (mg/g\ FW) = (19.3A_{652.4} - 3.6\ A_{665.2}) \times V/\ 100W \quad (۳)$$

$$T\ Chl\ (mg/g\ FW) = Chl\ a + Chl\ b \quad (۴)$$

$$Car\ (mg/g\ FW) = (1000A_{470} - 3.27Chl\ a - 104Chl\ b) / 227 \quad (۵)$$

در روابط فوق، V: حجم محلول سانتریفیوژ شده (محلول فوقانی)، A: جذب نور دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر و W: وزن‌ترنمونه استفاده شده بر حسب گرم است.

اندازه‌گیری محتوای پروتئین کل

برای تهیه عصاره مورد نیاز ابتدا ۰/۵ گرم بافت برگ‌در ۵۰ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ که حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) بود در داخل هاون چینی به‌خوبی آسیاب شد. سپس عصاره‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل HB800) سانتریفیوژ شدند و از عصاره شفاف رویی برای سنجش مقدار پروتئین و آنزیم‌ها استفاده شد (Gapinska *et al.*, 2008). برای تعیین مقدار پروتئین بافت نمونه‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی به داخل لوله‌های آزمایش حاوی پنج میلی‌لیتر معرف بیوره اضافه گردید و سریعاً هم زده شد. پس از گذشت پنج دقیقه جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر یخچال‌دار Scinco (مدل S-3100) در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. برای تعیین پروتئین کل نمونه‌ها از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده گردید (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌ها، خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH ارزیابی شد. بدین منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ تازه به‌وسیله ازت مایع در داخل هاون چینی به‌خوبی پودر گردید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول خالص به نمونه‌ها اضافه شد و برای یکنواخت شدن محلول به خوبی هم زده شد و به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس نمونه‌ها در ۱۰۰۰۰ دور توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفیوژ شدند. ۱۰ میکرولیتر از عصاره رویی برداشته شد و در داخل ۱۹۰۰ میکرولیتر محلول DPPH مخلوط شد و بلافاصله به هم زده شد. این نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و تا زمان رسیدن محلول به حالت یکنواخت نگه داشته شدند و سپس جذب آن‌ها در ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر یخچال‌دار Scinco (مدل S-3100) خوانده شد. در نهایت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به‌صورت درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه و گزارش شد (Zhang *et al.*, 2013). در این رابطه DPPHsc درصد بازدارندگی، Asamp میزان جذب (DPPH+نمونه) و Acont میزان جذب DPPH را نشان می‌دهند.

$$DPPHsc = (1-(Asamp/Acont)) \times 100 \quad (۶)$$

اندازه‌گیری پرولین و گلایسین بتائین

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین آزاد در برگ گیاهان از روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. برای این کار ۰/۵ گرم از بافت برگ به‌وسیله نیتروژن مایع در داخل هاون چینی پودر شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۱۰ درصد به آن افزوده شد و برای مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره رویی با دو میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در لوله آزمایش مخلوط گردید و برای مدت ۴۵ دقیقه به دستگاه بن ماری با دمای ۹۵ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید و بعد از این زمان برای پایان واکنش، لوله‌های آزمایش به مخلوط آب و یخ منتقل شدند. سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به تمام نمونه‌ها افزوده شد و برای مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه بهم زده شد. میزان جذب محلول قرمز رنگ قسمت رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر یخچال‌دار Scinco (مدل S-3100) قرائت شد. در نهایت برای اندازه‌گیری مقدار نهایی پرولین نمونه‌ها از استاندارد پرولین بر حسب نانومول در کیلوگرم وزن‌تر استفاده شد. در این آزمایش برای تهیه معرف ناین‌هیدرین ۱/۲۵ گرم ناین‌هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک شش مولار بر روی شیکر حل شد. اندازه‌گیری گلایسین بتائین با استفاده از روش سیرام و سریستاوا (Sairam & Srivastava, 2002) انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

میزان رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن براساس واکنش این رادیکال با یدید پتاسیم (KI) و براساس روش پیشنهادی (Alexieva *et al.*, 2001) محاسبه شد. در این روش ۰/۲ گرم از برگ گیاه را وزن کرده سپس در دو میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد با ازت مایع پودر شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور۱۰۰۰۰ توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل HB800) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از قسمت بالایی عصاره سانتریفیوژ شده برداشته شد و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷) و ۲ میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار به آن افزوده شد. این مخلوط به‌مدت ۶۰ دقیقه در محیط تاریک (در داخل فویل آلومینیومی) و دمای اتاق نگهداری شد سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر یخچال‌دار Scinco (مدل S-3100) در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد و غلظت نهایی پراکسید هیدروژن طبق منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شد.

برای تعیین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز از روش تجزیه پراکسید هیدروژن (آب اکسیژنه) و کاهش جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر استفاده شد. بدین منظور سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شده به روش یاد شده در اندازه‌گیری پروتئین، در آزمایش استفاده گردید. واکنش با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه در مدت ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر یخچال‌دار (مدل S-3100) خوانده شد. برای محاسبه واحد آنزیمی کاتالاز از ضریب خاموشی معادل ۳۹/۴ $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد (Zhang *et al.*, 2013).

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از بافر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۲۲۵ میلی‌مولار و بافر حاوی گایاکول ۴۵ میلی‌مولار استفاده گردید. ابتدا ۴۵۰ میکرولیتر محلول H_2O_2 و ۴۵۰ میکرولیتر محلول گایاکول در دمای پایین (ظرف حاوی یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه گردید و سپس تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Scinco (مدل S-3100) دنبال شد. در محلول شاهد به جای عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیر- لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز

گایاکول پراکسیداز محاسبه و بر حسب واحد آنزیمی بر کیلوگرم وزن تر گزارش شد (Alexieva *et al*., 2001).

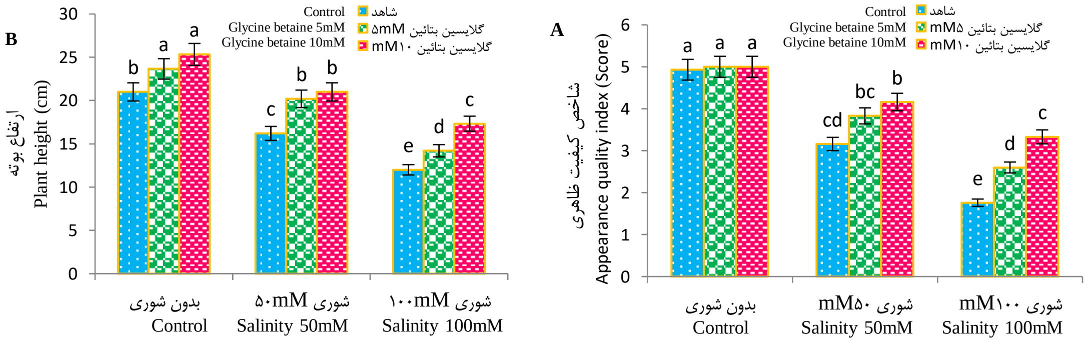
طرح آزمایشی و آنالیز آماری

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح گلایسین بتائین (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) و سه سطح شوری (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) با ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۳ گلدان طراحی و اجرا گردید. پس از جمع‌آوری اطلاعات، آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر گلایسین بتائین بر شاخص‌های مورفولوژیک چمن اسپورت تحت تنش شوری

نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری کیفیت چمن کاهش یافت ولی کاربرد گلایسین بتائین باعث حفظ کیفیت چمن نسبت به نمونه‌های شاهد شد. بطوری‌که در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار اگرچه بین کاربرد غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی غلظت ۱۰ میلی‌مولار دارای شاخص کیفیت ظاهری بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد بود. در سطح تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بیشترین کیفیت ظاهری چمن در گلایسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار و سپس ۵ میلی‌مولار بود. همچنین نتایج مربوط به ارتفاع بوته نشان داد با افزایش سطح شوری ارتفاع گیاهان نیز کاهش یافت ولی در تمام سطوح شوری غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین دارای ارتفاع بوته بیشتری نسبت به شاهد بودند، هرچند که در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار غلظت ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین اختلاف معنی‌داری با غلظت ۵ میلی‌مولار داشت، ولی در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار و بدون شوری بین غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

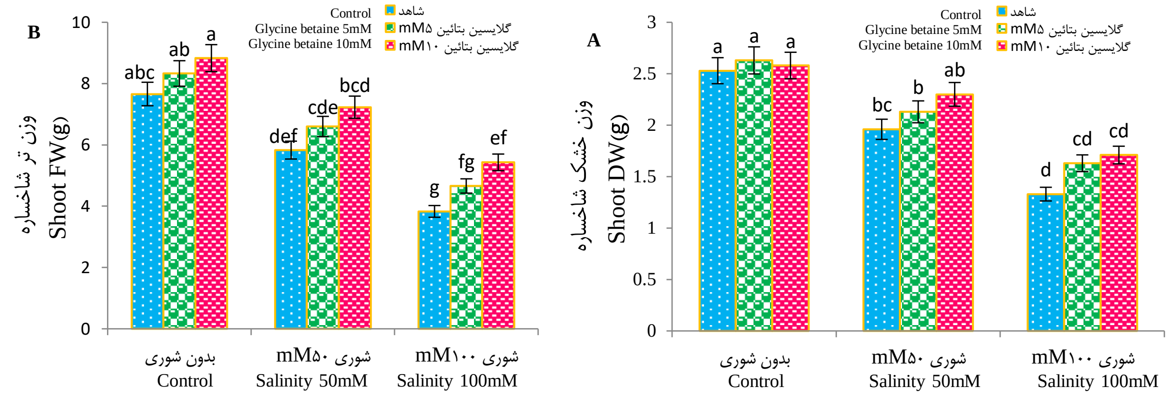


شکل ۱–اثر کاربرد گلایسین بتائین بر شاخص کیفیت ظاهری (A) و ارتفاع بوته (B) چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 1-The effect of glycine betaine application on appearance quality index (A) and height (B) of sport grass plant under salt stress (Tukey, *p≤0.05*)

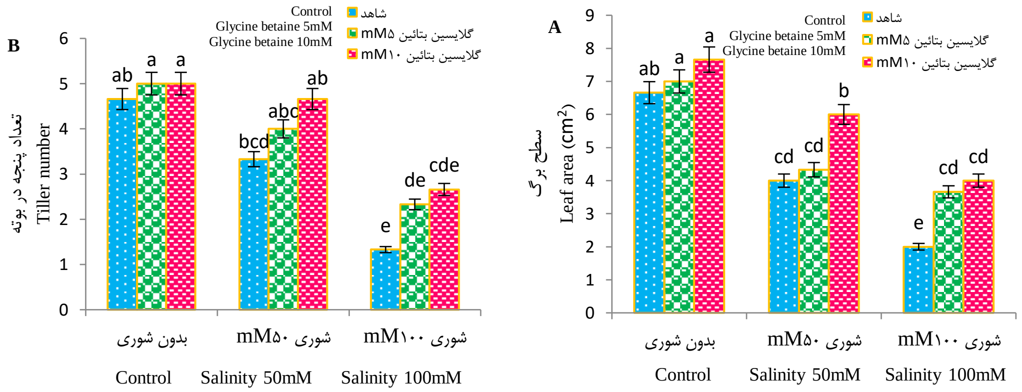
نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش سطح شوری وزن تر و خشک شاخساره کاهش یافت ولی در تمام سطوح شوری گیاهان محلول‌پاشی شده با گلایسین بتائین دارای وزن تر بیشتری نسبت به شاهد بودند. اگرچه در شرایط بدون شوری و سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار بین غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، سطح ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین دارای بیشترین وزن تر شاخساره بود. نتایج وزن خشک شاخساره نیز نشان داد که در شرایط بدون تنش بین غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در سطح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار، غلظت ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین اگرچه دارای بیشترین وزن خشک شاخساره بود، ولی اختلاف آن با غلظت ۵ میلی‌مولار معنی‌دار نبود و هردو آن‌ها دارای وزن خشک شاخساره بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند (شکل ۲).

نتایج نشان داد با افزایش سطح شوری تعداد پنجه کاهش یافت ولی کاربرد گلایسین بتائین در تمام سطوح شوری تعداد پنجه را نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش داد و سطح ۱۰ میلی‌مولار دارای تعداد پنجه بیشتری بود هرچند اختلاف آن با غلظت ۵ میلی‌مولار معنی‌دار نبود. همچنین با افزایش سطح شوری سطح برگ نیز کاهش یافت و با کاربرد گلایسین بتائین سطح برگ بطور معنی‌داری نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش یافت ولی بین غلظت‌های گلایسین بتائین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۲- اثر کاربرد گلایسین بتائین بر وزن خشک(A) و وزن تر (B) شاخساره چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 2-The effect of glycine betaine application on dry weight (DW, A) and fresh weight (FW, B) of sport grass shoots under salt stress (Tukey, *p≤0.05*)

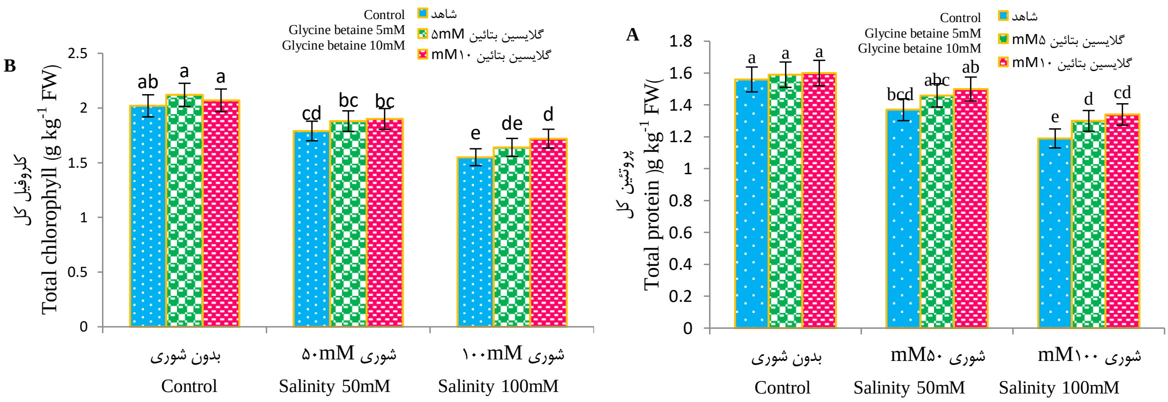


شکل ۳- اثر کاربرد گلایسین بتائین بر سطح برگ (A) و تعداد پنجه (B) چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 3-The effect of glycine betaine application on leaf area (A) and tiller number (B) of sport grass under salt stress (Tukey, *p≤0.05*)

اثر گلایسین بتائین بر شاخص‌های بیوشیمیایی چمن اسپورت تحت تنش شوری

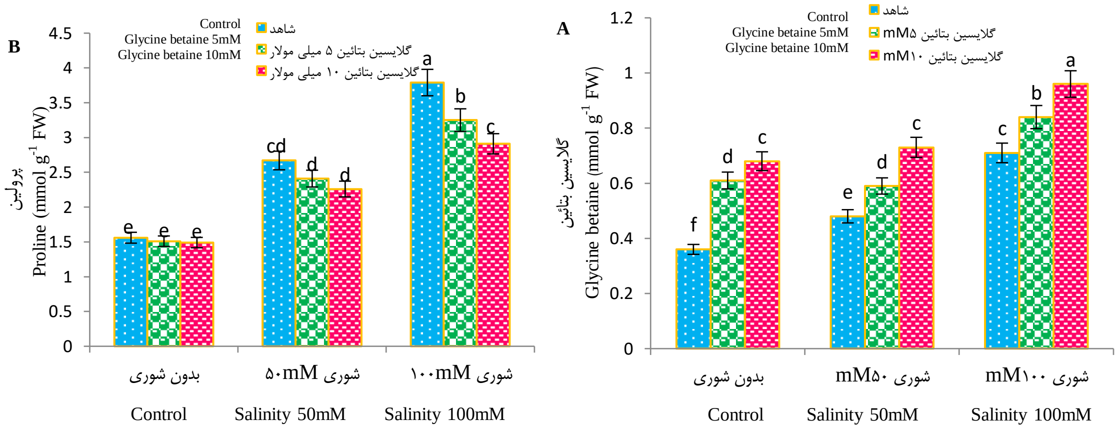
نتایج نشان داد با افزایش سطح تنش شوری محتوای کلروفیل کاهش یافت ولی با کاربرد گلایسین بتائین در گیاهان، محتوای کلروفیل آن‌ها نسبت به نمونه‌های شاهد بیشتر شد. براساس نتایج در شرایط بدون تنش و سطح تنش ۵۰ میلی‌مولار شوری بین گیاهان محلول‌پاشی شده با گلایسین بتائین و شاهد اختلاف معنی‌دار نبود، ولی در سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار شوری، نمونه‌های با سطح ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین دارای بیشترین محتوای کلروفیل بودند. نتایج مربوط به پروتئین نیز نشان داد با افزایش سطح تنش مقدار پروتئین کاهش یافت ولی در شرایط بدون تنش و سطح تنش ۵۰ میلی‌مولار اگرچه مقدار پروتئین در گیاهان محلول‌پاشی شده با گلایسین بتائین بیشتر بود ولی اختلاف آن‌ها با نمونه‌های شاهد معنی‌دار نبود. همچنین در سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار، غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر و دارای محتوای پروتئین بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند (شکل ۴).



شکل ٤- اثر کاربرد گلایسین بتائین بر محتوای پروتئین کل (A) و کلروفیل کل (B) در چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 4-The effect of glycine betaine application on total protein (A) and total chlorophyll content (B) in sport grass under salt stress (Tukey, $p\leq 0.05$)

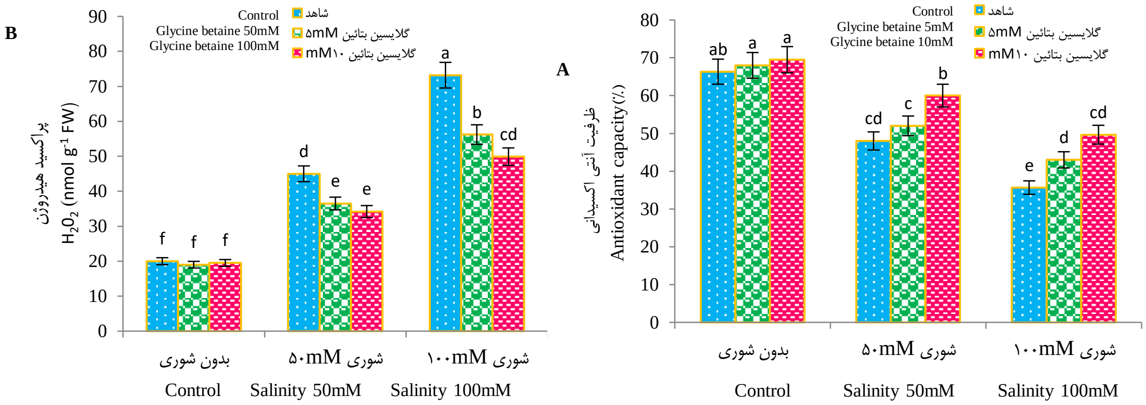
نتایج نشان داد با افزایش سطح تنش شوری محتوای گلایسین بتائین و پرولین افزایش یافت ولی در تمام سطوح تنش محتوای گلایسین بتائین درونی گیاهان در زمان کاربرد خارجی گلایسین بتائین بیشتر از شاهد بود، بطوری‌که بیشترین مقدار آن در کاربرد گلایسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد. نتایج مربوط به پرولین نیز نشان داد که در شرایط بدون تنش و تنش ۵۰ میلی‌مولار اگرچه کاربرد گلایسین بتائین باعث کاهش محتوای پرولین در چمن شد ولی این مقدار فاقد اختلاف معنی‌دار با شاهد بود. همچنین در سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار به‌ترتیب سطوح گلایسین بتائین ۱۰ و ۵ میلی‌مولار دارای محتوای پرولین کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند و بیشترین مقدار پرولین نیز در نمونه شاهد ثبت شد (شکل ۵).



شکل ٥- اثر کاربرد گلایسین بتائین بر محتوای گلایسین بتائین (A) و پرولین آزاد (B) در چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 5- The effect of glycine betaine application on the content of glycine betaine (A) and free proline (B) in sport grass under salt stress (Tukey, $p\leq 0.05$)

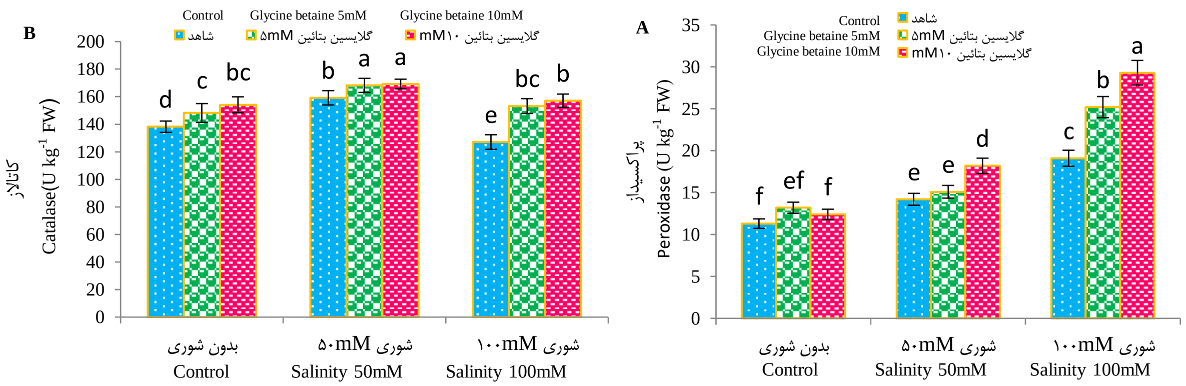
نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش میزان تولید رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن در بافت چمن افزایش یافت ولی کاربرد گلایسین بتائین بخوبی باعث کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در سطوح بالای شوری شدند. در شرایط بدون تنش بین کاربرد گلایسین بتائین و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین ۱۰ و ۵ میلی‌مولار به‌ترتیب دارای محتوای پراکسید هیدروژن کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند. نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز نشان داد که با افزایش سطح تنش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت ولی کاربرد گلایسین بتائین بخوبی باعث حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بافت چمن نسبت به نمونه‌های شاهد شد. بطوری‌که اگرچه در شرایط بدون تنش بین غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری گلایسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار و نمونه‌های شاهد به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بافت گیاهان بودند (شکل ۶).



شکل ٦- اثر کاربرد گلایسین بتائین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدان (A) و محتوای پراکسید هیدروژن (B) در چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 6- The effect of glycine betaine application on antioxidant capacity (A) and hydrogen peroxide content (B) in sport grass under salt stress(Tukey, $p≤0.05$)

مشاهده نتایج نشان داد بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار و در زمان کاربرد گلایسین بتائین مشاهده و در تمام سطوح شوری اگرچه بین غلظت‌های مختلف آن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی کاربرد گلایسین بتائین باعث افزایش فعالیت کاتالاز نسبت به نمونه‌های شاهد شد. نتایج مربوط به پراکسیداز نیز نشان داد با افزایش سطح شوری میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت، هرچند در شرایط بدون تنش شوری بین کاربرد گلایسین بتائین و شاهد از نظر فعالیت این آنزیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار بین کاربرد ۵۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و نمونه‌های شاهد اختلاف معنی‌دار نبود و بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در زمان محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین مشاهده شد. همچنین در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، گیاهان محلول‌پاشی شده با گلایسین بتائین ۱۰ و ۵ میلی‌مولار به‌ترتیب دارای بیشترین فعالیت پراکسیداز نسبت به نمونه‌های شاهد بودند (شکل ۷).



شکل ۷- اثر کاربرد گلایسین بتائین بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (A) و کاتالاز (B) در چمن اسپورت تحت تنش شوری

Figure 7- The effect of glycine betaine application on the activity of peroxidase (A) and catalase (B) enzymes in sport grass under salt stress (Tukey, $p≤0.05$)

بحث

با توجه به اینکه همه گیاهان گلایسین بتائین را به میزان کافی برای دفع اثرات سوء تنش‌های غیرزنده تولید نمی‌کنند، کاربرد خارجی آن رهیافتی برای افزایش غلظت این ترکیب در گیاهان برای افزایش تحمل به تنش در نظر گرفته شده است. به‌طور کلی گلایسین بتائین در گیاهان باعث افزایش پتانسیل اسمزی شده و در نتیجه با جذب آب توسط گیاه آماس سلول‌ها افزایش پیدا می‌کند. ازآنجا که رشد و نمو گیاهان بستگی به سرعت تولید و بزرگ شدن سلول‌های جدید دارد و گیاهان فقط در حالت آماس قادر به تقسیم سلولی هستند، با ایجاد حالت آماس توسط گلایسین بتائین تقسیم سلولی افزایش پیدا کرده و رشد گیاه در حالت کاربرد خارجی این ماده را سبب شده است (Kadkhodaie *et al*., 2014). شوری در گیاهان موجب اختلال در

جذب یون‌ها شده و سبب کاهش عناصر غذایی و افزایش یون سدیم می‌شود که این ویژگی باعث تغییرات فیزیولوژیکی، کاهش رشد و عملکرد در گیاهان می‌شود. کاربرد گلایسین بتائین بر رشد در شرایط تنش شوری دارای اثرات مفیدی می‌باشد که این اثرات را به ویژگی‌های آن برای افزایش در توانایی و جذب آب از طریق تنظیم اسمزی در سلول‌های گیاهی و کاهش سدیم و کلر در بافت‌های گیاهی ارتباط داده‌اند (Ashraf & Foolad, 2007). برخی از گونه‌های گیاهی توانایی سنتز گلایسین بتائین را به مقدار کافی در شرایط تنش نداشته و استفاده خارجی آن برای افزایش تحمل به تنش در آن‌ها مهم و ضروری است. کاربرد خارجی گلایسین بتائین به‌عنوان متداول‌ترین محلول آلی سازگار می‌باشد که در برابر تنش باعث تثبیت ساختارهای سلولی و پروتئین‌های کارکردی شده و تمامیت غشای سلول را در مقابل عوامل تنش‌زا حفظ می‌کند (Nawaz & Wang, 2020). در شرایط تنش، گلایسین بتائین می‌تواند از فعالیت‌های فتوسنتزی شامل آنزیم‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها و لیپیدها در غشاهای تیلاکوئیدی در ترکیب فتوسیستمII محافظت کند. همچنین وظیفه حفاظت از غشاهای سلولی در مقابل تنش‌های اسمزی درون گیاه را نیز بر عهده دارد (Papageorgiou *et al*., 1991).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد گلایسین بتائین بخوبی باعث حفظ کیفیت گیاهان در شرایط تنش شد. این اسید آمینه باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای گلایسین بتائین درون بافت گیاهان شد و با کاهش تنش وارد شده به گیاهچه‌های چمن باعث کاهش خسارت تنش شد که نتیجه آن کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و پرولین و حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدان و بهبود شاخص‌های رشدی گیاهان بود. یکی از رایج‌ترین رفتارهای دفاعی گیاهان در برابر تنش تولید و تجمع املاح سازگار (اسمولیت‌ها) است. این مواد دارای حلالیت بالا بوده و در غلظت‌های بالا غیرسمی هستند. از جمله اسمولیت‌های مهم می‌توان اسید آمینه پرولین، پلی‌آمین‌ها، گلایسین بتائین و قندها (مانیتول، سوربیتول و ترهالوز) را نام برد (Giri, 2011). گلایسین بتائین در تحریک سامانه آنتی‌اکسیدانی گیاهان نقش مهمی ایفا می‌کند و باعث افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌شود. همچنین با محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای کلروفیل به بهبود رشد گیاه کمک می‌کند (Ali *et al*., 2020). تنش شدید باعث توقف فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان می‌شود، اما فعالیت این آنزیم‌ها در حضور پرولین بیشتر از زمانی است که پرولین کمتری وجود دارد (Moller *et al*., 2007). گزارش شده است که افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی توسط پرولین، گیاهان را در مقابل خسارت‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌نماید. گلایسین بتائین نیز مشابه پرولین به‌عنوان یک اسمولیت سیتوپلاسمی عمل می‌کند و آنزیم‌ها و غشاها را از خسارت عوامل تنش‌زا حفظ می‌کند (Mohammadi *et al*., 2021). محسنی محمد جانلو و همکاران (Mohseni Mohammadjanlou *et al*., 2023) بیان کردند که تنش شوری در گندم میزان فعالیت گونه‌های فعال اکسیژنی مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن منفرد (گونه‌های اکسیژن فعال) را افزایش می دهد که در اثر شدت تنش و با افزایش این ترکیبات ساختار غشاء آسیب می‌بینند (Moller *et al*., 2007).

در گیاهان پاسخ به تنش شوری به مرحله رشد، نوع گیاه، توسعه گیاهی و همچنین غلظت و ترکیب نمک بستگی دارد (De Oliveira *et al*., 2013). مطالعات مختلف حاکی از کاهش ارتفاع با افزایش تنش شوری در گیاهان است که با نتایج حاضر هم‌راستا است (Cabrea, 2003). عمدتاً رشد و ارتفاع بوته به شرایط محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند وابسته است. یکی از این شرایط فراهم و در دسترس بودن آب کافی برای رشد گیاه است که در شرایط بروز تنش شوری محدود می‌شود. در صورت عدم تأمین آب موردنیاز گیاه، فشار تورژسانس سلول‌ها کاهش یافته و با تأثیر بر اندازه سلول‌ها، سبب کاهش ارتفاع بوته می‌شود. تنش اسمزی که از تنش شوری حاصل می‌شود نیز موجب کاهش محتوای آب سلول‌ها می‌شود و طویل شدن سلول‌ها را دچار مشکل می‌کند (Mortezainajad *et al*., 2005). در پژوهش حاضر محلول‌پاشی گلایسین بتائین باعث بهبود جذب آب و افزایش ارتفاع در گیاهان نسبت به نمونه‌های شاهد شد. هم‌راستا با نتایج حاضر افزایش ۱۰ درصدی ارتفاع در گیاه شمعدانی (*Pelargonium graveolens* L.) توسط کاربرد گلایسین بتائین گزارش شده است (Hakimi *et al*., 2019).

کاهش وزن تر و خشک شاخساره به علت کاهش فعالیت‌های زیستی درون سلول مانند فتوسنتز و تنفس در نتیجه اثر اسمزی ناشی از تجمع نمک‌ها در خاک است که موجب جذب کمتر آب و مواد مغذی از گیاه می‌شود. علاوه بر این تنش شوری رشد گیاهان را به‌دلیل قابلیت اسمزی بالا، سمیت یون‌های نمک و محدودیت محرک‌های رشد گیاهان مانند سیتوکینین و افزایش مواد بازدارنده کاهش می‌دهد (Farsaraei *et al*., 2020) از طرف دیگر، تنش شوری کاهش زیست‌توده را موجب شده که ممکن است به‌دلیل کاهش محتوای کلروفیل و سرعت فتوسنتز باشد (Shahzad *et al*., 2021). از آنجایی‌که محلول‌های سازگار می‌توانند در دیواره سلولی باعث ایجاد شبکه پیچیده پروتئینی گردند، مشخص شده است که در مهار گونه‌های فعال اکسیژن در مجموعه فتوسیستم II نقش دارند، بنابراین از تجزیه مولکولی پروتئین‌های تنظیم‌کننده در مرکز مجموعه جلوگیری می‌کنند

(Papageorgiou & Murata, 1995). بنابراین علت افزایش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در نتیجه محلول‌پاشی با گلایسین بتائین ممکن است به دلیل کاهش خسارت به فتوسیستم II و درنتیجه افزایش فتوسنتز و فرآورده‌های فتوسنتزی باشد. نشان داده شده که معمولاً مقدار کلروفیل بـا افـزایش شـوری کـاهش می‌یابد که ممکـن اسـت بـه‌دلیـل تشـکیل آنـزیم‌هـای پروتئینی مانندکلروفیلاز یا صدمه به دستگاه فتوسنتزی به‌دلیل فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Doğan, 2011). همچنین کاهش محتوای کلروفیل را می‌توان به تشکیل آنزیم‌های پروتئولیتیک در غلظت‌های بالای نمک نسبت داد که این آنزیم‌ها مسئول تخریب کلروفیل و کاهش فتوسنتز در شرایط شوری هستند (Shahzad *et al*., 2021).

به‌طور کلی کاهش در رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت شرایط شوری عموماً در اثر جلوگیری از بیوسنتز و یا تجزیه آن‌ها صورت می‌گیرد که تخریب مولکولی کلروفیل‌ها در گیاهان در شرایط تنش را می‌تواند به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا فعالیت آنزیم کلروفیلاز در شرایط تنش دانست (Miri & Zamani Moghadam, 2014). بنابراین در پژوهش حاضر تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و تجمع ترکیبات اسمولیتی دلیلی جهت کاهش خسارت تنش شوری و حفظ کلروفیل در زمان استفاده از گلایسین بتائین نسبت به شاهد است. همچنین افزایش محتوای کلروفیل با کاربرد گلایسین بتائین را می‌توان به علت نقش گلایسین بتائین در افزایش پیش ماده ساخت کلروفیل نیز نسبت داد (Jamil *et al*., 2011). در این پژوهش بهبود شرایط رشد گیاه توسط گلایسین بتائین باعث افزایش رشد و پنجه‌دهی گیاهان شد. فرانکویس و همکاران (Francois *et al*., 1986) گزارش کردند پنجه‌دهی گیاه گندم با افزایش سطوح شوری کاهش می‌یابد ولی با تعدیل اثرات سوء شوری پنجه‌دهی در گیاهان افزایش می‌یابد. کاتریج و همکاران (Katerji *et al*., 1996) نشان دادند که شوری در گیاهان آفتابگردان و ذرت بر روی هدایت روزنه‌ای، سطح برگ و میزان وزن خشک گیاه تأثیر می‌گذارد. همچنین در چمن آفریقایی با افزایش میزان شوری رشد قسمت هوایی و پنجه‌دهی کاهش، در حالی‌که رشد قسمت زیرزمینی افزایش یافت (Dudeck *et al*., 1993).

با افزایش شوری در گندم بیوماس نیز کاهش می‌یابد و علت آن تخریب فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تحت تنش شوری است (Craine, 2005) که احتمالاً علت آن کاهش سطح برگ و تعداد برگ‌ها باشد (Yunwei *et al*., 2007). سطح برگ نیز با افزایش میزان شوری در گندم کاهش یافت که به احتمال زیاد به‌دلیل اثر بر میزان هورمون‌های رشد و یا یک مکانیسم دفاعی گیاه در برابر تنش جهت محدود کردن نیازهای خود باشد. گزارش شده که یکی از راهکارهای گیاه در برابر تنش کاهش سطح برگ است که در واقع گیاه با این مکانیسم سطح تعرق خود را کاهش می دهد هرچند کاهش سطح برگ باعث کاهش مقدار فتوسنتز و در نهایت کاهش عملکرد خواهد شد (Mickelbart *et al*., 2006). مطالعات و پژوهش‌ها حاکی از آن است که گلایسین بتائین از کاهش سطح برگ در شرایط تنش جلوگیری می‌کند (Zamani *et al*., 2013). به نظر می‌رسد گلایسین بتائین با خاصیت تنظیم‌کنندگی اسمزی و تأثیر بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی از کاهش میزان آب برگ و کاهش سطح آن جلوگیری کرده است و لذا موجب افزایش سطح برگ گیاه می‌شود. مشابه نتایج حاضر کاربرد خارجی گلایسین بتائین توانست سطح برگ گیاه گوجه‌فرنگی را ۲۵ درصد افزایش دهد (Park *et al*., 2006).

افزایش میزان پرولین در شرایط تنش ممکن است به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول ساخت این ماده، کاهش تبدیل اکسیداسیونی پرولین به گلوتامات، کاهش میزان مصرف پرولین در فرآیند ساختن پروتئین‌ها و یا تخریب پروتئین‌ها و آزاد شدن پرولین باشد. پرولین اسید آمینه آزادی است که به‌عنوان یک ماده محلول به‌طور طبیعی در پاسخ به تنش‌ها در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد و در گیاه تحت تنش شوری به‌عنوان ذخیره نیتروژن و یک تنظیم‌کننده فشار اسمزی عمل می‌کند که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (Yazdani-Biouki *et al*., 2020, Haghighi, 2018). در این پژوهش با افزایش سطح شوری پرولین افزایش و مقدار پروتئین کاهش یافت و این نشان می‌دهد که احتمالاً تخریب پروتئین‌ها در اثر بروز تنش یکی از عوامل افزایش مقدار پرولین در گیاهان باشد که باتوجه به بالا بودن میزان خسارت در نمونه‌های شاهد مقدار پرولین در آن‌ها نیز بیشتر بود. تجمع پرولین در اثر تنش یک واکنش عمومی است و از طرفی غلظت بالای پرولین در بسیاری از موارد برای حیات گیاهان لازم بوده و همچنین در مواردی نیز بر روی متابولیسم‌های حیاتی گیاهان اثرات منفی و جبران‌ناپذیری را بر جای می‌گذارد و باعث مهار رشد می‌شود (Darvizheh *et al*., 2017). در شرایط تنش با افزایش پرولین، گیاه برای حفظ آب درون سلولی روزنه‌های خود را بسته و طی این فرایند روزنه‌ای مقدار فتوسنتز کم شده و رشد گیاه کاهش می‌یابد (Yazdani-Biouki *et al*., 2020, Mohammadi *et al*., 2021). تنظیم اسمزی برای حفظ عملکردهای سوخت و سازی سلول مهم است، زیرا این امکان را به گیاه می‌دهد تا فشار تورگر و حجم سلول را در پتانسیل پایین آب حفظ کند. علاوه بر این، تنظیم اسمزی موجب تسهیل فعالیت‌های سوخت و سازی پس از رهایی از تنش می‌شود. تجمع اسمولیت‌ها و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها از راهکارهای مهم تحمل تنش می‌باشند که با گذشت زمان در گیاهان مقاوم در برابر تنش، پایدار می‌مانند تا در برابر تنش‌های پی در پی مقاومت کنند (Abid *et*

al., 2018). پرولین به‌عنوان یک ماده اسمزا، به تنظیم اسمزی و حفاظت از ساختارهای درون سلول کمک می‌کند، به‌طوری‌که در برخی پژوهش‌ها بیان شده است که یک همبستگی مثبت بین تجمع پرولین و مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی وجود دارد (Jamil *et al.*, 2011).

براساس نتایج این پژوهش با افزایش سطح شوری محتوای پروتئین کاهش یافت هرچند گلایسین بتائین باعث حفظ محتوای پروتئین نسبت به نمونه‌های شاهد شدند. گزارش شده که کاهش در میزان پروتئین در اثر شوری را می‌توان به دلیل کاهش فعالیت آنزیم نیتریت ریداکتاز و گلوتامین سنتتاز و گلومین ۲-اگزالوگلوتارات آمینوترانسفراز نسبت داد (Dolatabadian *et al*., 2008). در پژوهشی روی گیاه نعنا (*Mentha spicata* var. crantz) با کاربرد گلایسین بتائین و شوری با افزایش میزان تنش شوری پروتئین کل کاهش یافت، اما محلول‌پاشی با گلایسین بتائین سبب افزایش میزان پروتئین کل شد که با نتایج حاضر همسو است (Joushan *et al*., 2020). گلایسین بتائین به‌عنوان یک تعدیل‌کننده اسمزی در سیتوپلاسم تحت شرایط خشکی ناشی از تنش شوری موجب ثبات درآنزیم‌ها و پروتئین‌ها می‌شود. افزایش در میزان پروتئین‌ها را در می‌توان به کاربرد گلایسین بتائین در افزایش تولید قندهای محلول نسبت داد. در کل با افزایش تنش شوری و به‌دنبال آن با کمبود آب، گروه‌های هیدروکسیل قندها جایگزین آب غشاها و پروتئین‌ها می‌شود تا واکنش آبدوستی در طی پسابیدگی حفظ شود. در این راهکار قندها با پروتئین‌ها و غشاء پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهند و از تغییر شکل آن‌ها جلوگیری می‌کنند (Leopold *et al*., 1994). مشابه نتایج حاضر تأثیر محلول‌پاشی گلایسین بتائین بر افزایش پروتئین برگ و ریشه گیاه کورونیلا (*Coronilla varia*) گزارش شده است (Hatami *et al*., 2021).

در پژوهش حاضر کاربرد گلایسین بتائین باعث بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان چمن نسبت به شاهد شدند. گلایسین بتائین می‌تواند از طریق جلوگیری از تولید گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد (Gan *et al*., 2018)، علاوه بر این گلایسین بتائین به‌عنوان یک اسمولیت سیتوپلاسمی عمل می‌کند و آنزیم‌ها و غشاها را از آسیب تنش حفظ می‌کند (Chen & Murata, 2011). در گزارشی مشابه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز اندام هوایی و ریشه گندم با افزایش شوری افزایش یافت (Maghsoumi & Holasoo Pourakbar, 2014). محلول‌پاشی با گلایسین بتائین در چمن *Axonopus compressus* از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، پروتئین و کلروفیل سبب افزایش تحمل به تنش شد (Nawaz & Wang, 2020). امروزه پذیرفته شده که گونه‌های اکسیژن فعال که در اثر تنش ایجاد می‌شوند به ماکرومولکول‌ها و در نهایت به ساختار سلولی آسیب می‌رسانند. آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز همراه با جاروب کننده‌هایی با وزن مولکولی اندک مانند آسکوربات، گلوتاتیون و پرولین در برابر گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در قسمت‌های مختلف سلول گیاهی به‌عنوان دفاع اصلی عمل می‌کنند (Apel & Hirt, 2004). در پژوهشی که روی شاخص‌های فیزیولوژیک گندم تحت تنش شوری انجام شد، نشان داد که با افزایش میزان شوری طول و وزن خشک ریشه، اندام هوایی و همچنین سطح برگ کاهش اما میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافت که با نتایج حاضر همسو است (Maghsoumi Holasoo & Pourakbar., 2014).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری باعث کاهش شاخص‌های رشدی و بروز علائم تنش در گیاهان چمن اسپرت شد ولی کاربرد گلایسین بتائین نقش مثبتی در کاهش خسارت شوری و حفظ کیفیت گیاهان داشت. به‌دلیل اینکه گلایسین بتائین از جمله مولکول‌های مؤثر در مسیر علامت‌رسانی تنش‌ها شناخته شده است پس می‌تواند ضمن کاهش تخریب غشا در برابر تنش‌ها از سلول محافظت کرده و با افزایش مکانیسم‌های تحمل به شوری، شرایط بهتری را برای رشد گیاه در محیط شور فراهم کند و موجب افزایش تحمل چمن به تنش شوری گردد. همچنین کاربرد گلایسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار تأثیر بهتری نسبت به سایر غلظت‌ها داشت که باتوجه به نتایج آن در پژوهش حاضر استفاده از این ترکیب به‌عنوان یک راهکار امیدبخش برای کاهش اثرات مخرب تنش شوری در چمن اسپورت قابل توصیه است.

References

1. Abid, M., Ali, S., Qi, L. K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D., & Dai, T. (2018). Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Reports*, *8*(1), 4615. https://doi.org/10.1038/s41598-018-21441-7
2. Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, *24*(12), 1337-1344. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x

3. Ali, S., Abbas, Z., Seleiman, M.F., Rizwan, M., YavaŞ, İ., Alhammad, B.A., & Kalderis, D. (2020). Glycine betaine accumulation, significance and interests for heavy metal tolerance in plants. *Plants*, *9*(7), 896. https://doi.org/10.3390/plants9070896
4. Amirjani, M.R. (2010). Effects of salinity stress on growth, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *American Journal of Physiology*, *5*(6), 350-360. https://doi.org/10.3923/ajpp.2010.350.360
5. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev. *Plant Biology*, *55*, 373-399. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
6. Ashraf, M.F.M.R., & Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, *59*(2), 206-216. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006
7. Ashraf, M.H.P.J.C., & Harris, P.J. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, *51*, 163-190. https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6
8. Bates, L.S., Waldren, R.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
9. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1-2), 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
10. Cabrera, R.I. (2003). Demarcating salinity tolerance in greenhouse rose production. In *International Symposium on Managing Greenhouse Crops in Saline Environment 609* (pp. 51-57). (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.609.5
11. Chen, T.H., & Murata, N. (2011). Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, Cell & Environment*, *34*(1), 1-20. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02232
12. Craine, J.M. (2005). Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *Journal of Ecology*, *93*(6), 1041-1052. https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01043.x
13. Darvizheh, H., Zavareh, M., & Ghasemnezhad, M. (2017). Effects of prolin application on biochemistry characteristics of German chamomil (*Matricaria chamomilla* L.) in water stress. *Applied Research of Plant Ecophysiology*, *4*(1), 35-60. https://doi.org/10.22059/IJHS.2022.319917.1901
14. De Oliveira, V.P., Marques, E.C., de Lacerda, C.F., Prisco, J.T., & Gomes Filho, E. (2013). Physiological and biochemical characteristics of *Sorghum bicolor* and *Sorghum sudanense* subjected to salt stress in two stages of development. *African Journal of Agricultural Research*, *8*(8), 660-670. https://doi.org/10.5897/AJAR12.861
15. Doğan, M. (2011). Antioxidative & proline potentials as a protective mechanism in soybean plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, *10*(32), 5972-5978. https://doi.org/10.5897/AJB10.2114
16. Dolatabadian, A., Sanavy, S.M., & Chashmi, N.A. (2008). The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. *Journal of Agronomy & Crop Science*, *194*(3), 206-213. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00301.x
17. Dudeck, A.E., Peacock, C.H., & Wildmon, J.C. (1993). Physiological and growth responses of St. Augustinegrass cultivars to salinity. *HortScience Journal*, *28*(1), 46-48. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.28.1.46
18. Eskandari, H., Ehsanpour, A.A., & Al Mansour, N. (2018). The effect of Rosmarinic acid on glycine betaine, carbohydrate and protein pattern changes of potato (*Solanum tuberosum* L.) callus under in vitro condition. *Iranian Journal of Plant Biology*, *10*(2), 1-18. (In Persian). https://doi.org/10.22108/IJPB.2017.107124.1058
19. Farsaraei, S., Moghaddam, M., & Pirbalouti, A.G. (2020). Changes in growth and essential oil composition of sweet basil in response of salinity stress and superabsorbents application. *Scientia Horticulturae*, *271*, 109465. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109465
20. Francois, L.E., Maas, E.V., Donovan, T.J., & Youngs, V.L. (1986). Effect of salinity on grain yield and quality, vegetative growth, and germination of semi-dwarf and Durum wheat. *Agronomy Journal*, *78*(6), 1053-1058. https://doi.org/10.2134/agronj1986.00021962007800060023x
21. Gan, L., Zhang, X., Liu, S., & Yin, S. (2018). Mitigating effect of glycinebetaine pretreatment on drought stress responses of creeping bentgrass. *HortScience Journal*, *53*(12), 1842-1848. https://doi.org/10.21273/HORTSCI13429-18
22. Gapinska, M., Skodowska, M., & Gabara, B.(2008). Effect of short and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, *30*, 11-18. https://doi.org/10.1007/s11738-007-0072-z
23. Giri, J. (2011). Glycinebetaine & abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling and Behavior*, *6*(11), 1746-1751. https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17801

24. Haghighi, M., & Sheibanirad, A. (2018). Evaluating of Azealic Acid on Tomato Vegetative and Photosynthetic Parameters under Salinity Stress', *Journal of Horticultural Science*, *32*(2), 287-300. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i2.64405
25. Hatami, Z., Roein, Z., & Shiri, M.A. (2021). Alleviation of freezing injury to *Coronilla varia* ground cover by foliar application of glycine betaine. *Journal of Plant Production*, *28*(4), 195-212. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22069/JOPP.2021.18569.2738
26. Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M., & Foolad, M.R. (2011). Gene expression profiling of plants under salt stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *30*(5), 435-458. https://doi.org/10.1080/07352689.2011.605739
27. Jing, Y.D., He, Z.L., & Yang, X.E. (2007). Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Zhejiang University Science B*, *8*, 192-207. https://doi.org/10.1631/jzus.2007.B0192
28. Joushan, Z., Sodeizadeh, H., Hakimzadeh Ardakani, M. A., Yazdani Biouki, R., & Khajahhosseini, S. (2020). Investigating the effect of foliar application of Glycine Betaine on some quantitative and qualitative characteristics of Mint (*Mentha spicata* L.) under salinity stress. *Plant Productions*, *43*(2), 267-280. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22055/PPD.2019.27413.1666
29. Kadkhodaie, A., Razmjoo, J., Zahedi, M., & Pessarakli, M. (2014). Selecting sesame genotypes for drought tolerance based on some physiochemical traits. *Agronomy Journal*, *106*(1), 111-118. https://doi.org/10.2134/agronj2013.0260
30. Katerji, N., Van Hoorn, J.W., Hamdy, A., Karam, F., & Mastrorilli, M. (1996). Effect of salinity on water stress, growth, and yield of maize and sunflower. *Agricultural Water Management*, *30*(3), 237-249. https://doi.org/10.1016/0378-3774(95)01228-1
31. Khandan-Mirkohi, A., Baie, N., & Hadavi, E. (2016). The effect of reduced application of water and nitrogen on growth management of mixed Turf-Grass. *Journal of Horticultural Science*, *30*(2), 327-335. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v30i2.43607
32. Leopold, A.C. (1984). Evidence for toxicity effects of salt on membranes. Salinity tolerance in plants. *Strategies for Crop Improvement*, 67-76. https://doi.org/10.1626/jcs.64.93
33. Leopold, A.C., Sun, W.Q., & Bernal-Lugo, I. (1994). The glassy state in seeds: analysis and function. *Seed Science Research*, *4*(3), 267-274. https://doi.org/10.22055/PPD.2019.27413.1666
34. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology*, *148*, 350-382). Academic Press. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
35. Maghsoumi Holasoo, S., & Pourakbar, L. (2014). The effects of salinity stress on the growth and some physiological parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Iranian Journal of Plant Biology*, *6*(19), 31-42. (In Persian). https://doi.org/20.1001.1.20088264.1393.6.19.4.5
36. Miri, H.R., & Zamani Moghadam, A. (2014). The effect of external usage of glycine betaine on corn (*Zea mays* L.) in drought condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *12*(4), 704-717. https://doi.org/10.22067/GSC.V12I4.24221
37. Mohseni Mohammadjanlou, A., Seyed Sharifi, R., & Khomari, S. (2023). Effects of bio-fertilizer and putrescine on yield and some agrophysiological and biochemical traits of wheat under soil salinity stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences.* (In Persian). https://doi.org/10.22077/escs.2023.4774.2067
38. Mohammadi, M., Aelaei, M., Saidi, M., (2021). Pre‑harvest spray of GABA and spermine delays postharvest senescence and alleviates chilling injury of gerbera cut flowers during cold storage. *Scientific Reports*, *11*, 14166. https://doi.org/10.1038/s41598-021-93377-4
39. Mohammadi, M, Eghlima Gh, Ranjbar ME (2023). Ascorbic acid reduces chilling injury in anthurium cut flowers during cold storage by increasing salicylic acid biosynthesis. *Postharvest Biology Technology*, *201*, 112359. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023
40. Moller, I.M., Jensen, P.E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. Annu. Rev. *Plant Biology*, *58*, 459-481. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946
41. Mortezainajad, F., Khavarinajad, R.A., & Emami, M. (2005). Evaluation of some performance parameters and proline rice varieties under salt stress. *New Agricultural Science*, *2*(4), 65-70. (In Persian). https://doi.org/10.22055/PPD.2019.27413.1666
42. Nawaz, M., & Wang, Z. (2020). Abscisic acid and glycine betaine mediated tolerance mechanisms under drought stress and recovery in *Axonopus compressus*: a new insight. *Scientific Reports*, *10*(1), 6942. https://doi.org/10.1038/s41598-020-63447-0
43. Papageorgiou, G.C., & Murata, N. (1995). The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving photosystem II complex. *Photosynthesis Research*, *44*, 243-252. https://doi.org/10.1007/BF00048597

44. Papageorgiou, G.C., Fujimura, Y., & Murata, N. (1991). Protection of the oxygen-evolving photosystem II complex by glycinebetaine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *1057*(3), 361-366. https://doi.org/10.1016/S0005-2728(05)80148-3
45. Park, E.J., Jeknic, Z., & Chen, T.H. (2006). Exogenous application of glycinebetaine increases chilling tolerance in tomato plants. *Plant and Cell Physiology*, *47*(6), 706-714. https://doi.org/10.1093/pcp/pcj041
46. Promyou, S., Ketsa, S., & van Doorn, W.G.(2012). Salicylic acid alleviates chilling injury in anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. *Postharvest Biology Technology*, *64*, 104–110. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.10.002
47. Sairam, R.K., & Srivastava, G.C.(2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, *162*, 897-904. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00037-7
48. Shahzad, K., Hussain, S., Arfan, M., Hussain, S., Waraich, E.A., Zamir, S., & El-Esawi, M.A. (2021). Exogenously applied gibberellic acid enhances growth and salinity stress tolerance of maize through modulating the morpho-physiological, biochemical and molecular attributes. *Biomolecules*, *11*(7), 1005. https://doi.org/10.3390/biom11071005
49. Yazdani-Biouki, R., & Beyrami, H. (2020). Investigating the effects of Glycine betaine on growth and flower yield of Damask Rose under salinity stress. *Journal of Crops Improvement*, *22*(1), 119-134. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jci.2020.287265.2257
50. Yunwei, D., Tingting, J., & Shuanglin, D. (2007). Stress responses to rapid temperature changes of the juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka). *Journal of Ocean University of China*, *6*(3), 275-280. https://doi.org/10.1007/s11802-007-0275-3
51. Zadehbagheri, M., & Salehi Salmi, M.R. (2016). The physiological, morphological and bio-chemical comparison of the current grass Shiraz city's green space with tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing*, *5*(18), 15-25. (In Persian). https://doi.org/10.18869/acadpub.jcpp.5.18.15
52. Zamani, M.M., Rabiyei, V., & Nejatian, M.A. (2013). Effect of proline and glycine betaine application on some physiological characteristics in grapevine under drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *43*(4). (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/IJHS.2012.29374
53. Zhang, Z., Huber, D.J., & Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, *76*, 58-64. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.09.003